Weitere tierexperimentelle Studien über die Bildung humoraler Antikörper gegen homo- und autologes Lebergewebe

von

WALTER CHRISTMEIER

aus Nürnberg

1966

1966 № 94

AUS DER MEDIZINISCHEN KLINIK DER FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
ERLANGEN - NÜRNBERG
Direktor: Professor Dr. med. N. Henning

WEITERE TIEREXPERIMENTELLE STUDIEN ÜBER DIE BILDUNG HUMORALER ANTIKÖRPER GEGEN HOMO- UND AUTOLOGES LEBERGEWEBE

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN-NÜRNBERG

vorgelegt von
Walter Christmeier
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät

der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Dekan: Professor Dr.Dr. G. Steinhardt

Referent: Professor Dr.med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 25. März 1966

IN DANKBARKEIT MEINEM VATER

ZUM 65. GEBURTSTAG GEWIDMET

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535727_0069

EINLEITUNG

Zur Frage einer geweblichen Schädigung durch Immunisierung mit einem entsprechenden autologen bzw. homologen Organextrakt, wurde in Vorstudien (7, 10), d.h. in einer tierexperimentellen Untersuchungsreihe an insgesamt 14 gesunden Kaninchen geprüft, inwieweit eine solche Sensibilisierung, hier mit Leberextrakt zu serologisch und organisch faßbaren Veränderungen führt. Die Ergebnisse dieser Vorversuche weisen darauf hin, daß bei nicht vorgeschädigten Organen die Sensibilisierung mit homologen Gewebsextrakten allenfalls zu einer - serologisch nicht immer objektivierbaren - Isoantikörperbildung führt, die offensichtlich keine schwerwiegenden Läsionen am entsprechenden Organsystem setzen. Zumindest konnten weder gewebliche Schädigungen, noch serologische Äquivalente aufgezeigt werden. Dies stimmt im übrigen auch überein mit klinischen Erfahrungen, wonach auch im Rahmen sogenannter Autoimmunisierungs-Krankheiten zirkulierende Antikörper vielfach vermißt werden. Einzelne positive Ergebnisse, z.B. mit geweblichen Antigenen bei Kollagen-Krankheiten (11) oder bei der Colitis ulcerosa (5, 6) scheinen nicht streng spezifisch zu sein, so daß sichere Schlußfolgerungen aus derartigen Phänomenen auf entsprechende Organprozesse der Kritik bis heute nicht völlig standhalten konnten.

Da andererseits auf Grund bestimmter Versuchsanordnungen, d.h. der Sensibilisierung von homologen Organextrakten mit FREUNDschem Adjuvans und außerdem auf Grund von klinischen Einzelbeobachtungen an der Möglichkeit einer durch Organimmunisierung bedingten spezifischen Organschädigung im Sinne der Autoimmunisierungs-Krankheiten festgehalten werden muß, steht nach wie vor zur Diskussion, unter welchen Bedingungen körpereigenes Organeiweiß Antigenität zu entfalten vermag, und weiterhin, ob auch homologes Organeiweiß zu einer organspezifischen Schädigung führen kann.

Im einzelnen ergibt sich die Frage, ob das Organproteinprimär geschädigt sein muß, oder ob auch das völlig unversehrte Gewebe unter bestimmten stoffwechselbedingten Abwandlungen bereits zu einer Immunisierung mit einer sekundären chronischen Organschädigung führt.

Zur Prüfung dieser noch ungeklärten Probleme wurden in einer größeren Versuchsreihe - unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren, die einer solchen Sensibilisierung Vorschub leisten könnten -, Kaninchen, mit lebertoxischen Stoffen vorbehandelt und anschließend mit homologem Leberextrakt immunisiert.

I. TIERMATERIAL UND VERSUCHSANORDNUNG

Es wurden insgesamt 13 Kaninchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 2500 g in Versuch genommen. 10 dieser Tiere überlebten die gesamte Versuchszeit. An diesen wurden die laufenden Studien vorgenommen.

Diese 10 Tiere wurden nach Entnahme der Ausgangswerte für sämtliche Blutuntersuchung mit einer Emulsion von 10% Äthyl-Alkohol und Tetrachlorkohlenstoff im Verhältnis 5 : 1 über eine Nährsonde transduodenal vorbehandelt. Zu diesem Zweck wurden die Tiere mit Evipan i.v. narkotisiert. Im einzelnen erhielt dann jedes Tier 5 ml dieser Emulsion. 5 der so behandelten Tiere wurden als Kontrollen belassen, während die restlichen 5 Tiere nach 8 Wochen mit homologem Leberextrakt unter Verwendung von FREUNDschem Adjuvans nach folgendem Schema (Abb. 1) sensibilisiert wurden.

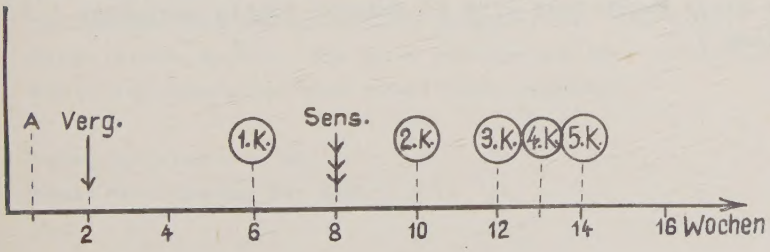

Abb. 1: Sensibilisierungsschema

Ausgangswerte und Kontrolluntersuchungen, deren Termin bzw. Intervalle der Abbildung 1 entnommen werden mögen, umfaßte folgende Analysen:

1. Gesamteiweißbestimmung
2. Papierelektrophorese
3. Hämagglutination nach BOYDEN
4. Labilitätsteste (Thymol, Takata)
5. Laktatdehydrogenase (LDH-Bestimmung)
6. Präzipitationsreaktion

Nach Abschluß der Sensibilisierungs-Serie wurden sämtliche Tiere mit Tetrachlorkohlenstoff bzw. mit homologem Leberextrakt zum Ausschluß unspezifischer Reizeffekte in kurzen Intervallen von 12 Stunden reinjiziert.

Nach Abschluß dieser Serie wurden sämtliche Tiere getötet und weitgehend entblutet. Es wurden die Organe Leber, Niere, Milz, Herz entnommen, eingefroren, davon Gefrierschnitte angefertigt und verschiedenartig weiterbehandelt. Das Serum wurde fluoresziiert und für den Nachweis gewebefixierter Antikörper verwendet. Über diese Ergebnisse wird an anderer Stelle berichtet (2. Mitteilung).

II. METHODIK

1. SERUMUNTERSUCHUNGEN

a) Gesamteiweißbestimmung nach WEICHSELBAUM (in 3).

b) Papierelektrophorese nach GRASSMANN und HANNIG (2, 3, 9).

Bei der Papierelektrophorese wird im Prinzip so vorgegangen, daß das zu trennende Eiweißgemisch (hier das Serum der Versuchstiere) als Querstrich auf einen Filterpapierstreifen aufgetragen wird, der dann mit Puffer getränkt und in eine feuchte Kammer gebracht wird. Die Enden des Papierstreifens tauchen in Pufferbehälter an beiden Enden der Kammer. Zur Vermeidung von Elektrolytverschiebungen durch Verdunstung und Elektrolyse sind die Enden des Papierstreifens von den Elektroden, die in die Pufferbehälter tauchen, durch ein Labyrinthsystem und Zwischenkammern getrennt. Nach Anlegung einer Gleichspannung an die Enden der Streifen wandern die einzelnen Komponenten mit ihrer charakteristischen Wanderungsgeschwindigkeit zur Anode, so daß nach 12 - 15 Stunden eine ausreichende Trennung erreicht ist. Nach Trocknen, Färben und Transparentmachen der Streifen werden sie photometrisch ausgewertet. Man erhält auf diese Weise Kurven, die nach planimetrischer Auswertung die Werte für die einzelnen Fraktionen ergeben.

c) Labilitätsteste (in 3),
sowie Bestimmung der LDH (3).[+]

[+] An dieser Stelle sei insbesondere Herrn Dr. Wüst vom serologischen Labor und seinen Mitarbeitern gedankt.

d) Hämagglutinations-Reaktion nach BOYDEN (1)

P r i n z i p : die passive Hämagglutination beruht auf der Möglichkeit, antigen wirksame Substanzen an die Oberfläche von tanninbehandelten Erythrozyten zu adsorbieren. Die so sensibilisierten Erythrozyten gehen bei Zugabe des spezifischen Immunserums eine Agglutination ein.

A u s f ü h r u n g :

1. Vorbehandlung der Erythrozyten

a) Gewinnung: Hammelblut wird durch ständiges Schütteln defibriniert.

b) Waschen: Das defibrinierte Blut wird anschließend zentrifugiert und das überstehende Serum verworfen. Die verbleibenden Erythrozyten werden 3 mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und anschließend auf eine 2,5 %ige Suspension eingestellt.

c) Tannieren: Gleiche Teile einer Tanninsäurelösung 1 : 4o ooo werden zu dieser Suspension gemischt und 20 min bei 37°C inkubiert. Die Erythrozytensuspension wird 10 min bei 15oo U/min abzentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und nach nochmaligem Waschen in physiologischer Kochsalzlösung erneut auf eine 2,5 %ige Erythrozytensuspension eingestellt.

d) Inkubieren mit dem Antigen: Zu der 2,5 %igen Erythrozytensuspension wird die in einem Vorversuch ermittelte optimale Antigenmenge (hier Leberextrakt) gegeben. Das Gemisch wird 20 min bei 37°C inkubiert. Danach wird bei 15oo U/min abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit verworfen. Nach zweimaligem Waschen wird erneut eine 2,5 %ige Erythrozytensuspension eingestellt.

2. Aufbereitung des Immunserums

a) Den Versuchstieren werden 10 ml Blut entnommen und abzentrifugiert. Das überstehende Serum wird bei 56°C 30 min in einem Wasserbad inaktiviert.

b) Herstellung einer geometrischen Verdünnungsreihe mit physiologischer Kochsalzlösung.

3. Versetzen der geometrischen Reihe mit der tannierten und antigen beladenen Erythrozytensuspension.
Zur Titerbestimmung werden nun jeweils 0,25 ml der sensibilisierten Erythrozyten zu einer geometrischen Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Serums hinzugegeben.

4. Hierauf läßt man die Agglutination 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen.

5. Beurteilung:
Die letzte noch eine Agglutination zeigende Verdünnung des Immunserums wird als Antikörper-Titer angegeben.

e) Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY (8)

Im Prinzip handelt es sich um eine Abwandlung der eindimensionalen Doppeldiffusion mit dem Unterschied, daß die Reaktionskörper frei dem Trägermedium zugeführt werden. Es wird also das Immunserum ebensowenig wie das Antigen mit dem Agar gemischt, beide diffundieren jedoch in das Agargel. Es entstehen an den Stellen optimaler Konzentration Präzipitate, die sich hier in Gestalt von Linien abzeichnen. Jede dieser Präzipitationslinien entspricht einem einzelnen Antigen-Antikörper-System. Nähere Ausführungen sind dem einschlägigen Schrifttum zu entnehmen.

2. Aufbereitung des homologen Leberextraktes

Es wurde ein gesundes Kaninchen getötet und die Leber entnommen. Diese wurde entblutet, gewaschen, von den Fascien gereinigt und zerkleinert. Im Mixgerät wurde die zerkleinerte Leber zu einem Brei aufbereitet und etwa die Hälfte der Menge physiologische Kochsalzlösung dazugegeben und gut durchmischt. Anschließend wurde die Aufschwemmung bei etwa 4ooo U/min 20 min zentrifugiert. Der Überstand wurde den Tieren injiziert.

III. ERGEBNISSE

1. G e s a m t e i w e i ß

Im Verlauf der Tierexperimente konnte über den gesamten Zeitraum des Versuches weder in der Gruppe der ausschließlich vergifteten Tiere, noch bei den mit Tetrachlorkohlenstoff behandelten und mit homologem Leberextrakt sensibilisierten Kaninchen eine Änderung der Gesamteiweißwerte festgestellt werden. Zwar waren die Ausgangswerte insgesamt niedriger gelegen als sämtliche im weiteren Versuch vorgenommenen Kontrollen (in b e i d e n Gruppen), jedoch fielen diese Werte noch sämtlich in den physiologischen Streubereich, so daß auch der hier bemerkte Anstieg nicht signifikant sein konnte (vergl. auch Tab. 1).

Tab. 1: Mittelwerte des Gesamteiweißes mit der Streubreite G, ausgedrückt in absoluten Prozenten.

A	1k	2k	3k	4k	5k
M ± 6,08	M ± 6,22	M ± 6,36	M ± 6,26	M ± 6,4	M ± 6,74
G 0,68	G 0,30	G 0,46	G 0,34	G 0,39	G 0,4

2. Papierelektrophoretische Befunde

Wie aus den Tabellen 2 + 3 ersichtlich, konnten in der Gruppe der lediglich vergifteten Kaninchen keine tiefgreifenden Änderungen in der Serum-Protein-Konstellation wahrgenommen werden, wenn man davon absieht, daß die α_2-Globuline vorübergehend angestiegen sind. Demgegenüber konnte

in der Gruppe der zusätzlich sensibilisierten Tiere, insbesondere ab der 2. Kontrolle durchweg eine deutliche Verschiebung in der Relation der Serumeiweißwerte festgestellt werden. Diese Veränderungen fanden ihren Ausdruck in einer Zunahme der Globulinfraktionen, hier vor allem der ß und γ Globuline auf Kosten der Serumalbumine (vergl. Tab. 2, 3, 4 und 5 und Abb. 2, 3 und 4).

Tab. 2: Mittelwerte der Serumeiweißkörper (Papierelektrophorese) während des Versuches, ausgedrückt in absoluten Prozenten (Gr. 6 - 10).

	Albumine	Globuline				
		α_1	α_2	$ß_1$	$ß_2$	γ
A M	3,56	o,44	o,32	o,52	o,2	o,86
± G	o,18	o,o55	o,o4	o,11	o,oo	o,o5
1k M	4,o8	o,42	o,36	o,56	o,14	o,76
± G	o,62	o,11	o,o55	o,11	o,o5	o,11
2k M	3,9o	o,44	o,46	o,58	o,2	o,74
± G	o,48	o,11	o,o9	o,13	o,oo	o,13
3k M	4,o6	o,6o	o,3o	o,56	o,16	o,76
± G	o,24	o,14	o,o7	o,15	o,o5	o,21
4k M	4,oo	o,56	o,42	o,54	o,18	o,96
± G	o,46	o,11	o,o8	o,o9	o,o9	o,21
5k M	4,o2	o,54	o,36	o,58	o,2	o,98
± G	o,43	o,o9	o,o9	o,o4	o,o7	o,22

Tab. 3: Mittelwerte der Serumeiweißkörper (Papierelektrophorese) während des Versuches, ausgedrückt in relativen Prozenten (Gr. 6 - 10).

	Albumine	Globuline				
		α_1	α_2	β_1	β_2	γ
A M	6o,36	7,58	5,42	8,32	3,56	14,7o
G ±	1,48	o,36	o,82	1,36	o,21	o,99
1k M	64,38	6,96	6,1o	9,o2	2,42	11,86
G ±	2,62	1,14	o,31	1,83	o,86	1,13
2k M	62,oo	7,18	6,84	9,18	2,86	11,92
G ±	4,oo	1,33	1,23	1,22	o,25	1,73
3k M	62,28	9,72	4,74	8,76	2,5o	12,oo
G ±	1,82	2,o2	o,88	1,7o	o,64	2,99
4k M	6o,22	8,74	6,56	7,68	2,98	14,58
G ±	5,o8	2,14	1,o6	1,22	1,23	3,24
5k M	59,5o	8,38	5,36	8,92	3,16	14,72
G ±	5,63	1,39	1,38	1,o4	o,97	3,86

Tab. 4: Mittelwerte der Serumeiweißkörper (Papierelektrophorese) während des Versuches, ausgedrückt in relativen Prozenten (Gr. 1 - 5)

	Albumine	Globuline				
		α_1	α_2	β_1	β_2	γ
A M	61,94	6,72	5,68	8.86	3,42	13,34
G ±	4,76	1,97	1,18	o,93	o,75	2,13
1k M	62,78	7,2o	5,54	7,78	2,72	14,oo
G ±	3,11	o,78	1,o3	o,31	o,82	1,52
2k M	53,2o	8,58	6,12	1o,8o	3,92	17.32
G ±	3,o5	1,58	o,84	1,4o	o,72	3,21
3k M	51,52	9,24	6,o2	1o.3o	3,72	19,22
G ±	3,52	1,51	1,58	1,48	o.35	3.47
4k M	49,12	11,o4	7,16	9.16	4,32	19,17
G ±	2,58	o,91	2,64	1,16	o,84	1,16
5k M	53,32	8,94	5,98	1o,1o	3,44	18,1o
G ±	1,65	o,42	o,97	1,oo	o,79	2,7o

Tab. 5: Mittelwerte der Serumeiweißkörper (Papierelektrophorese) während des Versuches, ausgedrückt in absoluten Prozenten (Gr. 1 - 5).

		Albumine	Globuline				
			α_1	α_2	β_1	β_2	γ
A	M	3,78	o,4o	o,34	9,54	o,24	o,82
	σ ±	o,48	o,12	o,13	o,o6	o,o6	o,22
1k	M	3,9o	o,44	o,36	o,48	o,14	o,9o
	σ ±	o,2o	o,o6	o,o6	o,o5	o,o5	o,12
2k	M	3,38	o,54	o,38	o,68	o,24	1,1o
	σ ±	o,23	o,o9	o,o8	o,o8	o,o6	o,22
3k	M	3,22	o,56	o,38	o,64	o,24	1,2o
	σ ±	o,34	o,o9	o,o8	o,o5	o,o5	o,23
4k	M	3,16	o,7o	o,46	o,58	o,28	1,2o
	σ ±	o,33	o,o7	o,13	o,o2	o,o8	o,1o
5k	M	3,6o	o,6o	o,4o	o,68	o,24	1,22
	σ ±	o,21	o,o7	o,o7	o,o8	o,o5	o,19

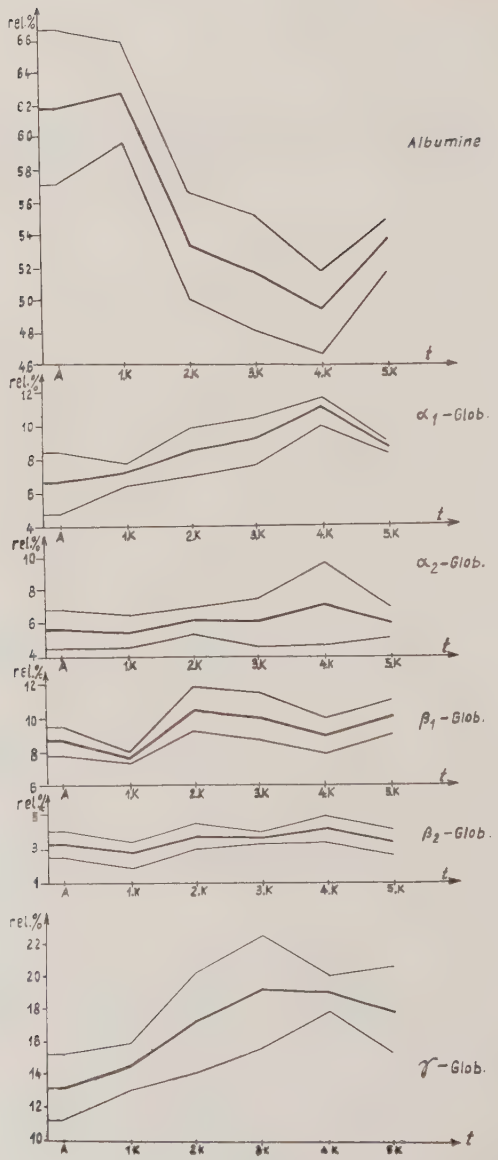

Abb. 2: Graphische Darstellung der rel.% der Serumeiweißkörper der Kaninchenseren aus der Gruppe 1-5 (vergiftet und sensibilisiert) Ausgangswerte und 5 Kontrollen.

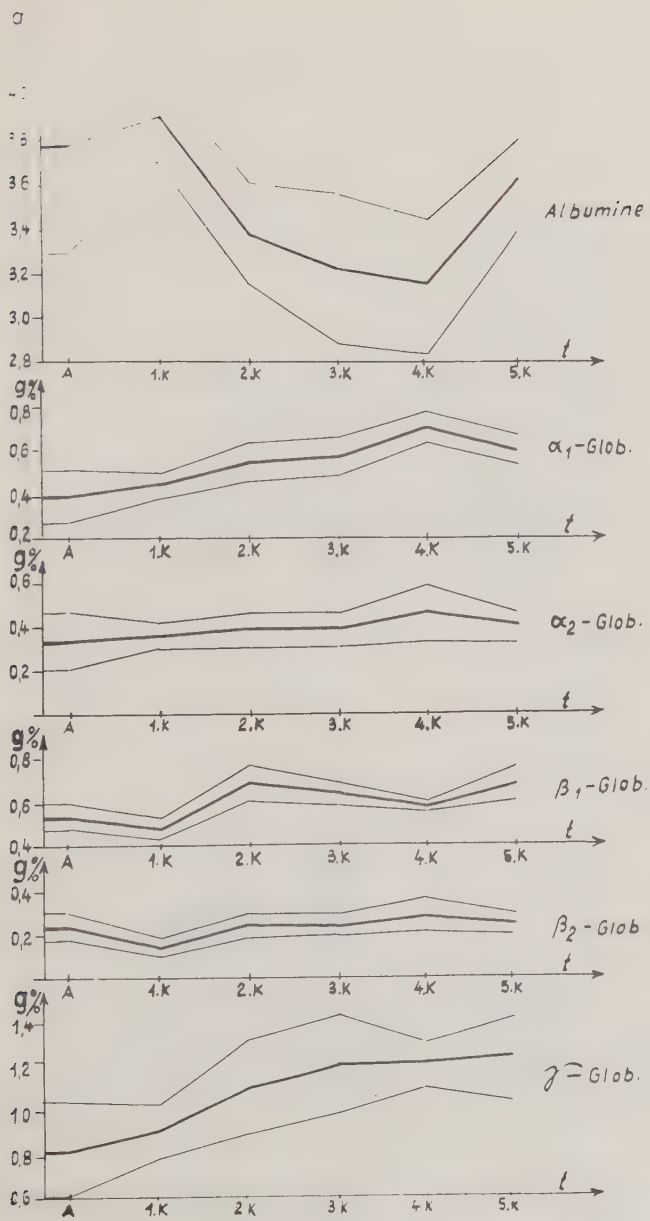

Abb. 3: Graphische Darstellung der abs.% der Serumeiweißkörper der Kaninchenseren aus der Gruppe 1-5 (vergiftet und sensibilisiert) Ausgangswerte und 5 Kontrollen.

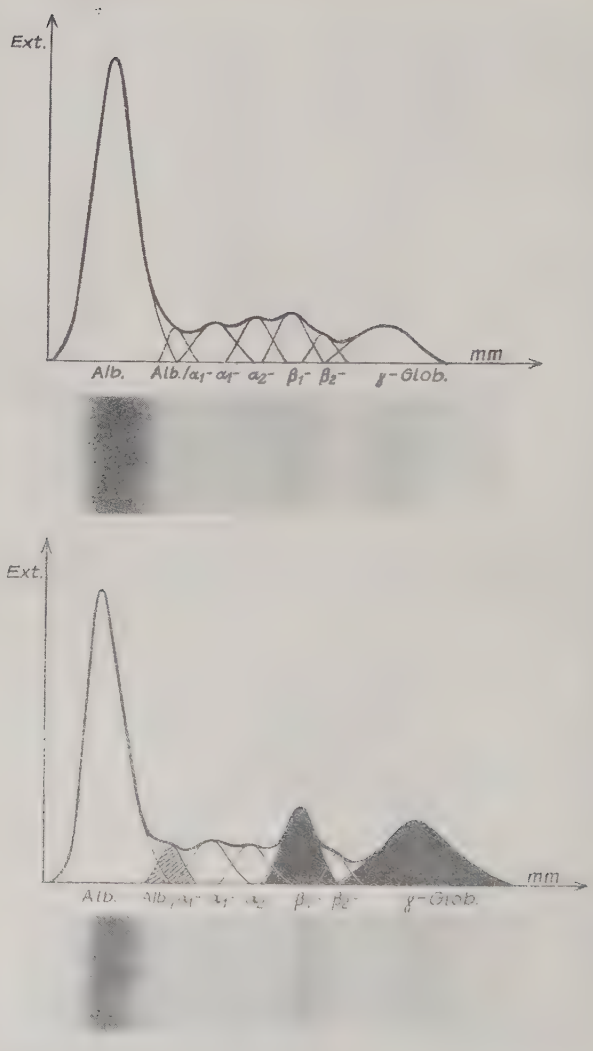

Abb. 4: Elektrophoresediagramm und -streifen eines Kaninchenserums aus der Gruppe der vergifteten und mit Leberextrakt sensibilisierten Tiere.
oben Ausgangswert
unten 5. Kontrolle

3. Serumlabilitätsteste und Serum-LDH

Die Serumwerte der LDH zeigten bei den Kaninchen 1 - 5 , d.h. bei den vergifteten und sensibilisierten Tieren bis zur zweiten Kontrolle einen kontinuierlichen Anstieg gegenüber dem Ausgangswert, der über die weiteren Kontrollen bis einschl. der letzten nur geringfügig abnahm. Insgesamt lagen diese Werte noch immer weit über dem Ausgangswert (Vergl. Tab. 6 und Abb. 5).

Bei der Gruppe 6 - 1o, d.h. bei den nur vergifteten und nicht sensibilisierten Tieren erwiesen sich sämtliche Werte als unauffällig.

Tab. 6: Mittelwerte der Serum-LDH bei beiden Gruppen.

	A	1.K.	2.K	3.K.	4.K.	5.K.
Gr. 1-5	85,6	117,4	161,4	113	111	114,4
Gr. 6-10	76	81	84	69	57	56

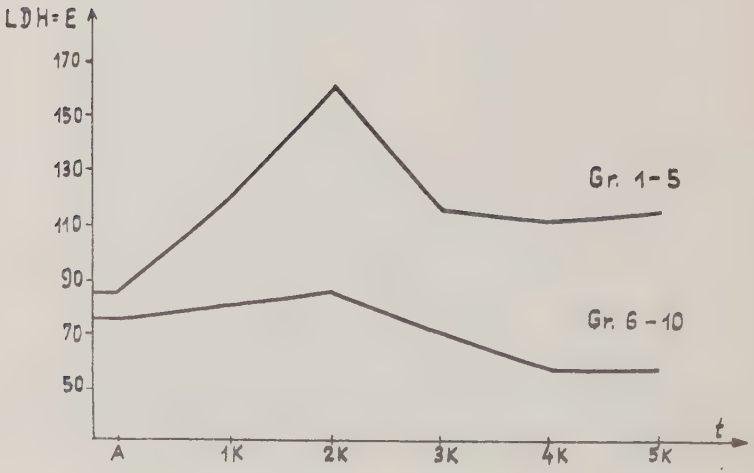

Abb. 5: Darstellung der Mittelwerte für die LDH während des Versuches für beide Gruppen.

4. Befunde der Hämagglutinationsreaktion

In der Gruppe der mit Tetrachlorkohlenstoff und nachfolgend mit homologem Leberextrakt sensibilisierten Tiere traten bereits bei der 2. Kontrolle, dh. 2 Wochen nach Sensibilisierungsbeginn deutlich erhöhte Hämagglutinationstiter gegen Leberextrakt auf. Sie stiegen bis zur 3. Kontrolle weiter an und erreichten im einzelnen Titerwerte von 1:256 und 1:512. Wie aus der Abb. 6 zu ersehen ist, gingen die positiven Hämagglutinationswerte allmählich wieder zurück; bei der letzten Kontrolle waren sie allerdings mit Einzelbefunden von 1:64 und 1:32 noch immer als positiv zu beurteilen.

In der Gruppe der nur mit Tetrachlorkohlenstoff behandelten Tiere konnten nur bei der 2. und 3. Kontrolle gering erhöhte Hämagglutinationstiter nachgewiesen werden. Die höchste Verdünnungsstufe bei noch positivem Ergebnis betrug 1:32. In allen anderen Kontrollen waren keine erhöhten Hämagglutinations-Reaktionen zu fassen (Vergl. Tab. 7 und Abb.6).

Tab. 7: Mittelwerte der Hämagglutinationstiter während des Versuches für beide Gruppen.

	A	1.K.	2.K.	3.K.	4.K.	5.K.
Gr. 1-5	-	-	16	218	121	35
Gr. 6-10	-	-	14,4	14,4	-	-

5. Untersuchung auf präzipitierende Antikörper

In keiner der Kontrollen konnten weder bei den Tieren der Gruppe 1-5, noch bei der Gruppe 6-10 gegen homologen Leberextrakt positive Präzipitations-Reaktionen im Agar-Gel aufgezeigt werden.

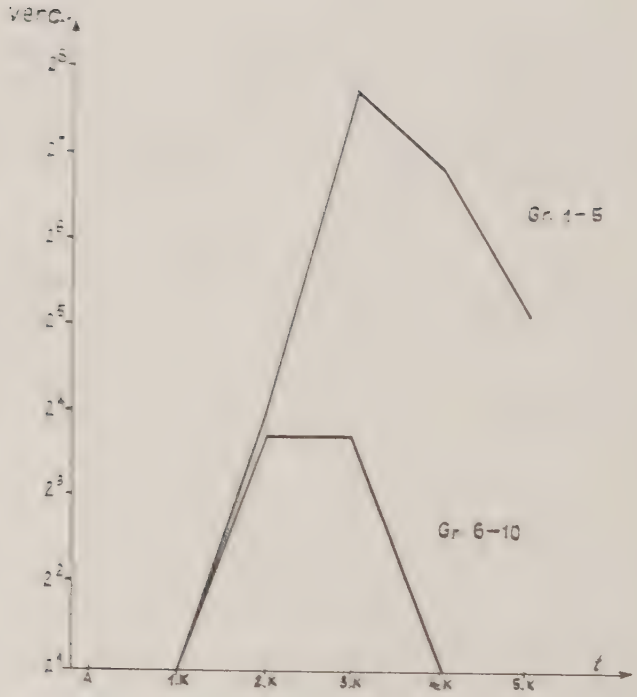

Abb. 11 Tierexperiment (Mittelwerte) während des Versuches.

DISKUSSION

In vorangegangenen Untersuchungen wurde gezeigt, daß bei primär gesunden Tieren eine Sensibilisierung mit homologem Leberextrakt ohne gleichzeitige Verwendung eines FREUNDschen Adjuvans nicht wahrscheinlich ist (3, 8). Diese tierexperimentelle Erfahrungstatsache entspricht den unter gleichen oder ähnlichen Versuchsbedingungen auch von anderen Autoren erzielten Ergebnissen (in 4), bei welchen Applikation von homologem und auch autologem nicht pathologisch verändertem Gewebeextrakt eine Sensibilisierund, d.h. Bildung von Antikörpern und gewebliche Veränderungen, nicht erfolgt. Andererseits findet man bei gleicher Versuchsanordnung, aber unter Zusatz von FREUNDschem Adjuvans zu speziesgleichem Leberhomogenat Anhaltspunkte für eine organgezielte Sensibilisierung mit Entwicklung einer Leberparenchymschädigung und dem Nachweis sessiler sowie zirkulierender Antikörper (10).

In den hier vorgenommenen Untersuchungen interessierte darüber hinaus die Frage, ob nicht nur die applizierten homologen individualfremden Organproteine im Sinne einer Isosensibilisierung, sondern allein eine unspezifische Schädigung des Lebergewebes, hier im Sinne einer echten Autosensibilisierung zur Entwicklung organspezifischer Antikörper führen.

Wie in den Ergebnissen dargelegt, konnten in der Gruppe der nur mit Tetrachlorkohlenstoff behandelten Tiere weder sichere zirkulierende Antikörper gegen Lebergewebe, noch Veränderungen der Serumeiweißkörper, noch die Ausschüttung leberspezifischer Fermente objektiviert werden. Es war lediglich ein geringfügiger Anstieg der Hämagglutinationsreaktion bei 2. und 3. Kontrolle festzustellen. Diese Ergebnisse stehen in einem gewissen Widerspruch zu der Vorstellung, daß bereits geringfügige Abwandlungen eines körpereigenen Organproteins, etwa durch Autolyse (11), Nekrosen, Entzündungsfaktoren oder Metaplasien zur Entwicklung autoantigener Eigenschaften führen können. Für das Experiment gilt dabei, daß bereits die mechanische Aufarbeitung autologer Zellen und Gewebe die ursprüngliche Proteinstruktur so zu ändern

Tab. 8: G diff und t der Gruppe 1 - 5 (rel.%).

	Albumine	Globuline				
		α_1	α_2	β_1	β_2	γ
A:2 Gdiff ±	2,53	1,13	o,65	o,42	o,47	1,72
t	3,45	1,65	o,67	4,62	1,o6	2,31
A:3 Gdiff ±	2,56	1,11	o,88	o,42	o,37	1,82
t	3,93	2,27	o,38	3,43	o,81	3,23
A:4 Gdiff ±	2,42	o,97	1,29	o,41	o,5o	1,o9
t	5,29	4,45	1,15	1,17	1,8o	5,32
A:5 Gdiff ±	2,25	o,9o	o,68	o,42	o,48	1,54
t	3,83	2,46	o,44	3,52	o,o42	3,o9

Tab. 9: G diff und t der Gruppe 1 - 5 (abs.%).

	Albumine	Globuline				
		α_1	α_2	β_1	β_2	γ
A:2 Gdiff ±	o,24	o,o67	o,o68	o,o5	o,o37	o,14
t	1,66	2,o8	o,58	2,8o	o,oo	2,o
A:3 Gdiff ±	o,26	o,o67	o,o68	o,o35	o,o35	o,14
t	2,15	2,39	o,38	2,85	o,oo	2,71
A:4 Gdiff ±	o,26	o,o62	o,o82	o,o3	o,o45	o,11
t	2,38	4,84	1,45	1,33	o,88	3,45
A:5 Gdiff ±	o,23	o,o62	o,o66	o,o5	o,o35	o,13
t	o,78	3,22	o,9o	2,8o	o,oo	3,o7

Tab. 8 und 9: In den Tabellen 8 und 9 sind die statistisch ermittelten Differenzen zwischen Ausgangswert und den einzelnen Kontrollen zusammengestellt. Unter Berücksichtigung der kleinen Zahl ergeben sich sowohl für die rel.%, als auch für die g % signifikante Unterschiede bei der 4. Kontrolle für folgende Serumeiweißfraktionen: Albumine, α_1- γ-Globuline. Vergleiche hierzu auch Abb. 2 und 3.

vermag, daß sie Antigenität erlangen. Andererseits besteht in vorhergehender Versuchsanordnung die Möglichkeit einer ungenügend intensiven Einwirkung des Zellgiftes, wodurch u.U. der Effekt einer immunologisch unspezifischen Leberparenchymschädigung in nicht ausreichendem Maße erzielt worden war. Der anfänglich, wenn auch geringe positive Agglutinationstiter mag auf eine passagere Permeabilitätsstörung der durch Tetrachlorkohlenstoff geschädigten Leberzellen hinweisen. Das völlig indifferente Verhalten der LDH in dieser Gruppe spricht jedoch gegen eine tiefergreifende Schädigung des Leberparenchyms der entsprechenden Tiere.

Demgegenüber waren in der Gruppe der mit Tetrachlorkohlenstoff vorbehandelten und anschließend sensibilisierten Tiere serologische Reaktionen festzustellen: Die erhobenen Befunde wiesen dabei auf eine nicht nur allgemeine Sensibilisierung, sondern auf eine organspezifische Sensibilisierung hin. Es wurden gegen Leberextrakt spezifische Agglutinine im peripheren Blut nachgewiesen; es zeigten sich im Vergleich zur nicht sensibilisierten Tiergruppe stärker erhöhte LDH-Werte; es ergaben sich schließlich relativ tiefgreifende Veränderungen in der Serumprotein-Konstellation. Hinsichtlich der Hämagglutinationstiter konnten in der vorliegenden Gruppe im einzelnen und durchschnittlich höhere Titer erreicht werden als in früheren Versuchen mit homologem Leberextrakt und FREUNDschen Adjuvans, aber ohne vorherige Vergiftung (8). Offenbar begünstigt also eine unspezifische Vorschädigung des Lebergewebes den Sensibilisierungsvorgang. Die hier gefundenen LDH-Werte liegen zwar, im Vergleich zu den Serumbefunden des Menschen, noch sämtlich in physiologischen Bereichen. Unseres Erachtens ist dem gleichförmigen und kontinuierlichen Anstieg der Werte bei den Tieren der Gruppe 1 - 5 dennoch eine Bedeutung beizumessen, da die verglichenen Kaninchen 6 - 10 keinerlei Schwankungen gezeigt haben. Es wäre außerdem zu prüfen, inwieweit die Verhältnisse beim Tier mit den LDH-Werten des Menschen überhaupt vergleichbar sind. Die Veränderungen der Serumeiweißkörper schließlich zeigen, wie dies insbesondere in den absoluten

Werten zum Ausdruck kommt, nicht nur Verschiebungen i.S. eines Immunisierungseffektes, sondern Serumprotein-Konstellationen i.S. einer Leberparenchymschädigung. Vor allem in den letzten Kontrollen war abgesehen von einer Hypalbuminämie, die eine Tendenz zur Normalisierung zeigt, eine kontinuierliche Zunahme der ß- und γ-Globuline nachweisbar.

Die Tatsache, daß zwar agglutinierende Antikörper im peripheren Blut, in keinem Falle aber spezifische Präzipitine gegen Lebergewebe nachweisbar waren, spricht unseres Erachtens lediglich dafür, daß unter der hier aufgezeigten Versuchsanordnung Antikörper mit relativ niedermolekularen Proteinen gebildet wurden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Applikation von Tetrachlorkohlenstoff führt bei Kaninchen zu flüchtigen Permeabilitätsstörungen der Leberzellen, und geringfügigem Anstieg des Hämagglutinationstiters gegen homologes Lebergewebe. Diese Leberschädigung zeigt kein Progredienz. Nach Behandlung mit Tetrachlorkohlenstoff und anschließender Sensibilisierung von Kaninchen mit homologem Leberextrakt und FREUNDschem Adjuvans, konnten zirkulierende Antikörper gegen Leberhomogenat sowie vorübergehend erhöhte Werte der Serum-LDH und eine Dysproteinämie festgestellt werden.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BOYDEN, S.V.
J. exp. Med. 93, 107 (1952)

2. GRASSMANN, HANNIG, K., KNEDEL, M.
Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filtrierpapier.
Dtsch. med. Wschr. 76, 333 (1951)

3. HENNING, N.
Laboratoriumsdiagnostik.
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin 1960

4. KABAT, E.A., MEYER, M.M.
Experimental Immunochemistry.
Charles C. Thomas, Springfield, J 11., 306 (1961)

5. KIRSNER, J.B.
Die immunologische Reaktion des Colon.
Z. Gastroenterologie 3, 251 (1965)

6. KIRSNER, J.B., PALMER, W.L.
J. Am. med. Ass. 155, 341 (1954)

7. MINTZLAFF, P.
Immunitätsreaktionen bei Kaninchen nach Sensibilisierung mit arteigenem Leberextrakt.
Dissertationsarbeit Med. Univ. Klin. Erlg. 1964

8. OUCHTERLONY, Ö.
Antigen- + Antibody-reactions in gels.
Acta path. microbiol. scand. 26, 507 (1949)

9. SCHEIFFARTH, F., BERG, G., GÖTZ, H.
Papierelektrophorese in Klinik und Praxis.
Urban & Schwarzenberg, München - Berlin 1962

10. SCHEIFFARTH, F., WARNATZ, H., GÖTZ, H., KETTNER, G.
Tierexperimentelle Studien über die Bildung humoraler Organantikörper gegen homo- und autologes Lebergewebe.
Gastroenterologie 5, 279 (1964)

11. VÖRLAENDER
Über den Nachweis komplementbindender Auto-Antikörper bei Nieren- und Lebererkrankungen.
Z. ges. exp. Med. 118, 352 (1962)

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Professor Dr. N. Henning für die Übernahme des Referates und Herrn Professor Dr. F. Scheiffarth für die freundliche Überlassung des Themas zu danken.

Meinen besonderen Dank möchte ich Frau Dr. H. Götz, die mir immer in liebevoller Weise mit Rat und Tat zur Seite stand, aussprechen.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 22. August 1939 als Sohn der Kaufmannseheleute Fritz und Luise Christmeier, geb. Lindner, in Nürnberg geboren.

Von 1946 bis 1950 besuchte ich in Nürnberg die Volksschule, hierauf die Oberrealschule. 1959 bestand ich mein Abitur.

Am 1. November 1959 begann ich mit dem Studium der Sozialwirtschaft.

Im Sommer-Semester 1960 wechselte ich zum Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen.

Am 12. November 1962 bestand ich das Physikum mit der Note "gut" und am 13. August 1965 das Staatsexamen mit der Note "gut" an der gleichen Universität.

Seit 15. Januar 1966 bin ich in Nürnberg als zahnärztlicher Assistent tätig.

Buchdruck und Fotodruck: Ludwig Müller, Erlangen, Fahrstraße 5